

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004 年 7 月 29 日 (29.07.2004)

PCT

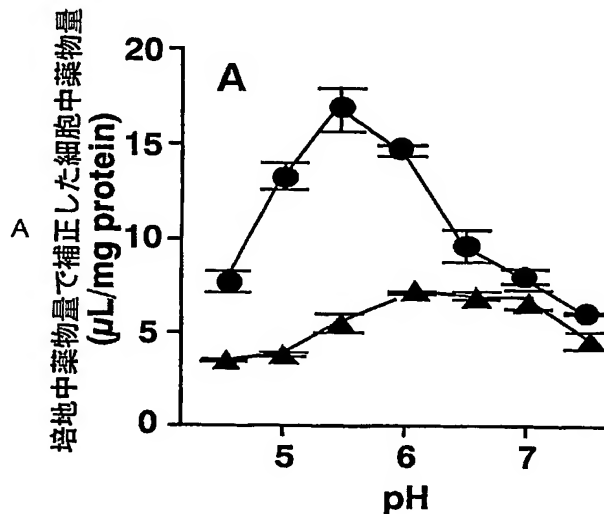
(10) 国際公開番号
WO 2004/062691 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 45/08, 38/02, 47/32, A61P 31/04, 31/12, 35/00, 43/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/000070
- (22) 国際出願日: 2004 年 1 月 8 日 (08.01.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2003-006005 2003 年 1 月 14 日 (14.01.2003) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 大塚製薬株式会社 (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1018535 東京都千代田区神田司町 2 丁目 9 番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 辻 彰 (TSUJI, Akira) [JP/JP]; 〒9200865 石川県金沢市長町 1-3-10 Ishikawa (JP).
- (73) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 玉井 郁己 (TAMAI, Ikumi) [JP/JP]; 〒9218117 石川県金沢市緑が丘 9-24 Ishikawa (JP). 榎 吉道 (SAI, Yoshimichi) [JP/JP]; 〒9218035 石川県金沢市泉が丘 2-9-17-105号 Ishikawa (JP). 小富 正昭 (ODOMI, Masaaki) [JP/JP]; 〒7710182 徳島県徳島市川内町平石夷野 224-18 大塚製薬株式会社 製剤研究所内 Tokushima (JP). 豊福 秀一 (TOYOBUKU, Hidekazu) [JP/JP]; 〒7710182 徳島県徳島市川内町平石夷野 224-18 大塚製薬株式会社 製剤研究所内 Tokushima (JP).
- (74) 代理人: 三枝 英二, 外 (SAEGUSA, Elji et al.); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町 1-7-1 北浜 T N K ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,

[続葉有]

(54) Title: AGENT IMPROVING PROTON-DRIVEN TRANSPORTER-MEDIATED ABSORPTION IN DIGESTIVE TRACT AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: プロトン駆動型トランスポーター介在型消化管吸収改善剤及びその製法



A...DRUG CONTENT IN CELL CORRECTED
BY DRUG CONTENT IN MEDIUM

(57) Abstract: It is intended to provide a medicinal preparation, which improves the absorption of a medicinal compound in the digestive tract to give such a concentration in blood as potentially achieving a sufficient therapeutic effect in oral administration or the like, and a process for producing the same. A preparation showing excellent absorbability in the digestive tract and containing a compound which is recognized by a proton-driven transporter and a pH-sensitive polymer, wherein the pH-sensitive polymer is contained in an amount sufficient for controlling the pH value in the digestive tract to the optimum level for the uptake of the compound into cells by the proton-driven transporter, and so on.

[続葉有]



BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG,

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約: 本発明は、医薬品化合物の消化管での吸収を改善し、経口投与等において十分な治療効果が期待できる血中濃度が得られる医薬製剤、及びその製法を提供する。プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物とpH感受性高分子を含む製剤であって、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込みpHとするのに足る量のpH感受性高分子を含有してなる、消化管での吸収性が良好な製剤等に関する。

明 細 書

プロトン駆動型トランスポーター介在型消化管吸収改善剤及びその製法

5

技術分野

本発明は、プロトン駆動型トランスポーター介在型消化管吸収改善剤及びその製法に関する。

背景技術

10 一般に多くの慢性疾患領域において、経口投与法は、利便性もしくはコストの点から望ましい投与経路であると考えられている。しかしながら、多くの医薬品候補化合物は、消化管における膜透過性が低いもしくは消化管内において不安定であるため経口での吸収性が低下し、十分な薬理効果を得る血中濃度を維持できないという現状に直面する。

15 また、小腸上皮細胞に発現する吸収輸送系トランスポーターに認識される有機化合物が報告されているにもかかわらず、該有機化合物の中には難吸収性を示す傾向のあるものも存在することも知られている（例えば、Sakamoto et al., J. Antibiot. 38: 496-504 (1985)、Kelly et al., Clin. Pharmacokinet. 19:177-196 (1990)など）。

20 このような状況の中で、医薬品候補化合物の吸収改善に種々の吸収促進剤もしくは酵素阻害剤を利用することが検討されている。例えば、Swenson et al., Adv. Drug. Del. Rev. 8: 39-92 (1992)及びKompella et al., Adv. Drug. Del. Rev. 46: 211-245 (2001)には、ペプチドの吸収改善のために吸収促進剤を利用する方法が記載されている。しかし、この方法は、本来吸収を促進するために添加する
25 吸収促進剤により細胞が障害を受けるという問題点がある。

一方、Hayakawa et al., Pharm. Res. 9: 535-540 (1992)及びZhou et al., J. Control. Rel. 29: 239-252 (1994)には、消化管における分解を抑制し吸収をさせる目的で、酵素阻害剤を添加する方法が記載されている。しかし、この方法を用いた場合には、吸収に基質特異性が得られないといった問題点がある。

また、消化管における排出輸送系に認識されるフロセミドの吸収を改善するために、pH感受性高分子を添加するなどの方法も知られているが（例えば、Terao et al., J. Pharm. Pharmacol. 53: 433-440 (2000)）、トランスポーターを利用した消化管吸収の改善を示唆するものではなく、上記と同様、消化管吸収に基質
5 特異性は得られないといった問題点がある。

また、従来、吸収輸送系トランスポーターの基質でありながら難吸収性を示す有機化合物の吸収を促進させた例はない。

発明の開示

10 本発明は、医薬品化合物の細胞内への吸収を改善し、経口投与等において充分な治療効果が期待できる血中濃度が得られる医薬製剤、及びその製法を提供することにある。具体的には、プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物と、該プロトン駆動型トランスポーターにおいて該化合物の消化管内における至
15 適細胞内取り込みpHとするのに足る量のpH感受性高分子とを含む、消化管での吸収性が良好な製剤及びその製法を提供することにある。

本発明者らは、上記の課題を解決するため鋭意研究を重ねた結果、以下の新規な知見(1)及び(2)を得た。

(1) ペプチドトランスポーター（プロトン駆動型トランスポーターの1つ）で認識される化合物（以下「基質」ともいう）が消化管で難吸収性の傾向を示す場
20 合があるのは、ペプチドトランスポーターの基質輸送駆動力であるプロトン（H⁺）が消化管下部にいくにつれて減少し基質輸送能力が低下するためであること、及び

(2) 特定量のpH感受性高分子を基質に添加することによりペプチドトランスポーターの駆動力が向上し、難吸収性傾向を示す基質の消化管からの吸収性が改
25 善されること。

本発明者らは、これらの知見に基づき、プロトン駆動型トランスポーターがその至適細胞内取り込みpHにおいて基質の取り込みが最も促進されることを見出し、これを更に発展させて本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は以下の技術を提供する。

項1. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物とpH感受性高分子を含む製剤であって、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込みpHとするのに足る量のpH感受性高分子を含有してなる、消化管での吸収性が良好な製剤。

- 5 項2. プロトン駆動型トランスポーターが、小腸の上皮細胞に発現する吸収輸送系トランスポーターである項1に記載の製剤。

項3. プロトン駆動型トランスポーターが、ペプチドトランスポーター、モノカルボン酸トランスポーター、及びD-サイクロセリンを輸送するアミノ酸トランスポーターからなる群から選ばれる1種である項2に記載の製剤。

- 10 項4. プロトン駆動型トランスポーターが、ペプチドトランスポーターである項3に記載の製剤。

- 項5. ペプチドトランスポーターに認識される化合物が、ペプチド、 β -ラクタム抗生物質、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、抗ウイルス薬、抗腫瘍薬、及び ω -アミノカルボン酸からなる群から選ばれる少なくとも1つである項4に記載の製剤。
- 15

項6. プロトン駆動型トランスポーターが、モノカルボン酸トランスポーターである項3に記載の製剤。

- 項7. モノカルボン酸トランスポーターに認識される化合物が、乳酸、ピルビン酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、グリコール酸、ニコチン酸、サリチル酸、安息香酸、パラアミノ安息香酸、及びホスカルネットからなる群から選ばれる少なくとも1つである項6に記載の製剤。
- 20

項8. プロトン駆動型トランスポーターが、D-サイクロセリンを輸送するアミノ酸トランスポーターである項3に記載の製剤。

- 項9. D-サイクロセリンを輸送するアミノ酸トランスポーターに認識される化合物が、L-アラニン (α -アラニン)、 β -アラニン、L-プロリン、及びグリシンからなる群から選ばれる少なくとも1つである項8に記載の製剤。
- 25

項10. プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込みpHが、該プロトン駆動型トランスポーターを発現した細胞を使用し、各

種 pH 条件における該化合物の細胞内取り込み量を評価して測定されたものである項 1 に記載の製剤。

5 項 1 1. プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込み pH が、イン シチュ クローズド ループ法を用いて該化合物の消化管内移行量を評価して測定されたものである項 1 に記載の製剤。

10 項 1 2. pH 感受性高分子が、乾燥メタクリル酸コポリマー、メタクリル酸コポリマー LD、メタクリル酸コポリマー L、メタクリル酸コポリマー S、ポリアクリル酸、マレイン酸-n-アルキルビニルエーテル共重合体、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、及びヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートからなる群から選ばれる少なくとも 1 つである項 1 に記載の製剤。

15 項 1 3. pH 感受性高分子が、オイドラギット L100-55、オイドラギット 30D-55、オイドラギット L100、オイドラギット S100、オイドラギット P-4135F、ポリアクリル酸、マレイン酸-n-アルキルビニルエーテル共重合体、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、及びヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートからなる群から選ばれる少なくとも 1 つである項 1 に記載の製剤。

項 1 4. 項 1 ~ 1 3 のいずれかに記載の経口投与用製剤。

20 項 1 5. 下記の (1) 及び (2) の工程を含む消化管での吸収性が良好な製剤の製法：

(1) プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の該プロトン駆動型トランスポーターにおける至適細胞内取り込み pH を測定する工程、及び

(2) 上記至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子を該化合物に配合する工程。

25 項 1 6. 項 1 5 に記載の製法により得られる製剤。

項 1 7. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸収性を向上させるための製剤であって、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子と、プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物とを含有し

てなる製剤。

項 18. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸収性を向上させる方法であって、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込み pH に制御することを特徴とする方法。

5 項 19. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸収性を向上させるために、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子を配合する方法。

10 項 20. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸収性を向上させるための、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子の使用。

15 項 21. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸収性が向上された製剤を製造するための、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子の使用。

発明の詳細な記述

20 本発明は、プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物（基質）と pH 感受性高分子を含む製剤であり、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける基質の至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子を含有してなる製剤であり、消化管での吸収性が良好な製剤に関する。

本発明について以下詳細に説明する。

プロトン駆動型トランスポーター

25 本発明におけるプロトン駆動型トランスポーターとは、哺乳動物（特に、ヒト）の消化管から細胞内に向けてプロトン（ H^+ ）勾配を利用し輸送を行う能動輸送型のトランスポーターをいう。プロトン駆動型トランスポーターは、消化管、具体的には消化管刷子縁膜側表面近傍（特に、小腸上皮細胞刷子縁膜側表面）等に発現しており、細胞内に栄養物質や薬物を能動的に取り込む吸収輸送型のトラン

スポーターである。上記の小腸には、十二指腸、空腸、回腸が含まれる。

本発明におけるプロトン駆動型トランスポーターの具体例としては、ペプチドトランスポーター (PEPT)、モノカルボン酸トランスポーター、D-サイクロセリンを輸送するアミノ酸トランスポーター等が挙げられる。

- 5 上記ペプチドトランスポーター (PEPT) は、ジペプチド、トリペプチド、それらの類似化合物の輸送を媒介するトランスポーターであり、生体における蛋白質の吸収やペプチド性窒素源の維持に寄与する。具体的には、710個のアミノ酸からなり主に小腸や腎臓に発現しているペプチドトランスポーター1 (PEPT1)、及び729個のアミノ酸からなり主に腎臓や、脳、肺、脾臓等に発現しているペプチドトランスポーター2 (PEPT2) が挙げられる。
- 10

なお、上記の吸収輸送型ペプチドトランスポーターにより小腸上皮細胞内に取り込まれた化合物は、小腸上皮細胞の側底膜に存在する側底膜型ペプチドトランスポーターにより血中に輸送される。側底膜型ペプチドトランスポーターは、濃度勾配に従った輸送を媒介する促進拡散型のトランスポーターである。

- 15 上記モノカルボン酸トランスポーターは、乳酸の輸送を媒介するトランスポーターであり、生体における嫌氣的解糖の最終生成物である乳酸の維持に寄与する。

上記D-サイクロセリンを輸送するアミノ酸トランスポーターは、アミノ酸の輸送を媒介するトランスポーターであり、生体におけるアミノ酸の維持に寄与する。

- 20 プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物 (基質)

本発明におけるプロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物とは、プロトン駆動型トランスポーターに認識され消化管から細胞内 (例えば、小腸上皮細胞) に取り込まれ得る化合物をいう。まず、化合物がプロトン駆動型トランスポーターに認識されるか否かは、例えば次のようにして判定される。

- 25 対象となるプロトン駆動型トランスポーターが発現している細胞及び発現していない細胞を使用して、該化合物の細胞内取り込み量を測定する。プロトン駆動型トランスポーターが発現している細胞で該化合物の取り込みが高い場合には、該化合物の細胞内移行にプロトン駆動型トランスポーターが関与することが考え

られる。

ここで、プロトン駆動型トランスポーターが発現している細胞とは、内在的にプロトン駆動型トランスポーターを発現している細胞を意味する。例えば、内因的にペプチドトランスポーターを発現している細胞として、Caco-2 細胞、HT-29
5 細胞、COLO-320 細胞、HT-1080 細胞、AsPc-1 細胞、Capan-2 細胞および SK-ChA-1 細胞等が挙げられる。

さらに、該化合物の取り込みが観察された細胞を使用し、プロトン駆動型トランスポーターに認識されることが既に判っている基質（例えば、セファドロキシ
10 ル(CDX)）を該化合物と同時に試験溶液に添加し、細胞内取り込みを評価したときに、該化合物の細胞内取り込み阻害効果が観察されれば、評価した該化合物はプロトン駆動型トランスポーターに認識されると判定される。

或いは、プロトン駆動型トランスポーターが発現している細胞を、例えば、PEPT1 cDNAを哺乳類培養細胞発現ベクターに組み込み、PEPT1 cDNAを含むベクターをトランスフェクトした後、モデル細胞（例えば、HeLa 細胞）
15 に過剰発現させる等の公知の方法により作製し、該化合物の細胞内取り込み量を測定してもよい。

化合物の細胞内取り込み量の測定は、プロトン駆動型トランスポーターを発現している細胞及び発現していない細胞における、単位細胞タンパク質重量あたりの化合物の細胞内移行量（細胞に含まれる全タンパク質量を基準とした細胞内に移行した該化合物量）を評価して測定される。例えば、ペプチドトランスポーターの場合は、ペプチドトランスポーターを発現した及び発現していない細胞に対する該化合物移行量を測定し、両細胞における単位細胞タンパク質重量あたりの細胞内移行量（ $\mu\text{L}/\text{mg protein}$ ）を比較し、取り込みに及ぼすトランスポーターの寄与を評価して測定される。

25 プロトン駆動型トランスポーターのうち上記のペプチドトランスポーター（PEPT）は、他の栄養物質トランスポーターに比べて広範な基質認識性を有している。そのため、PEPT（特に、PEPT1）において認識され小腸上皮細胞内に取り込まれる化合物としては、ペプチドのみならず、 β -ラクタム抗生物質、

アンジオテンシン変換酵素阻害剤、抗ウイルス薬、抗腫瘍薬、 ω -アミノカルボン酸等の広範な医薬化合物が挙げられる。

具体的には、ペプチドとしては、ジペプチド、トリペプチドが挙げられる。ジペプチドとしては、天然又は合成アミノ酸から選ばれる任意の2つのアミノ酸を
5 アミド結合して得られるものであればよく、そのうち好ましいものとしてはグリシルサルコシン、カルノシン、リジノプリル等が例示される。トリペプチドとしては、天然又は合成アミノ酸から選ばれる任意の3つのアミノ酸をアミド結合して得られるものであればよく、そのうち好ましいものとしては Phe-Cys-Val、Glu-His-Pro、Phe-Ala-Pro が例示される。

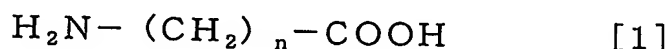
10 β -ラクタム抗生物質としては、例えば、ペニシリン系、セフェム系抗生物質等が挙げられ、具体的には、アモキシリン、アンピシリン、シクラシリン、フェノキシメチルペニシリン (phenoxy-methylpenicillin)、プロピシリン、カルフェシリン (carfecillin)、カルベニシリン (carbenicillin)、バカムピシリン (bacampicillin)、ピバムピシリン (pivampicillin)、セファドロキシル、セフ
15 イキシム、セフチブテン、セファクロル、セファレキシン、セフラジン、SCB-100、セファトリジン、セファロチン、セフジニル、ロラカロベフ (loracarbef)、FK089、ラタモキシセフ (latamoxef)、ピブセファレキシン (pivcefalexine)、セファゾリン、セフォペラゾン、セフォキシチン、セフォチアム、セフメタゾール等が例示される。

20 アンジオテンシン変換酵素阻害剤としては、カプトプリル、エナラプリル、キナプリル、ベナゼプリル (benazepril)、フォシノプリル (fosinopril)、リシノプリル (lisinopril)、SQ 29852、エナラプリラート、キナプリラート、ベナゼプリラート (benazeprilat)、フォシノプリラート (fosinoprilat) 等が例示される。

抗ウイルス薬としては、バラシクロビル等が例示される。

25 抗腫瘍薬としては、ベスタチン等が例示される。

ω -アミノカルボン酸としては、一般式[1]：



(式中、nは4～11の整数を示す)

で示される化合物が挙げられる。

この他にも、L-ドーパ-L-フェニルアラニン (L-dopa-L-Phe)、4-アミノフェニル酢酸 (4-aminophenyl acetic acid (4-APAA))、 δ -アミノレブリン酸 (δ -aminolevulinic acid (ALA)) 等が例示される。

- 5 プロトン駆動型トランスポーターのうち上記のモノカルボン酸トランスポーターにおいて認識され細胞内に取り込まれる化合物としては、乳酸、ピルビン酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、グリコール酸、ニコチン酸、サリチル酸、安息香酸、パラアミノ安息香酸及びホスカルネット等の化合物が挙げられる。

- 10 プロトン駆動型トランスポーターのうち上記のD-サイクロセリンを輸送するアミノ酸トランスポーターにおいて認識され細胞内に取り込まれる化合物としては、L-アラニン、 β -アラニン、L-プロリン及びグリシン等の化合物が挙げられる。

基質のpHプロファイル

- 15 本発明において、プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物 (基質) のpH プロファイルとは、pHを変化させたときのプロトン駆動型トランスポーターにおける該基質の細胞内取り込み量の特徴 (pHに応じた基質の細胞への移行特性) を意味する。これにより、特定のプロトン駆動型トランスポーターが特定の基質を細胞内に取り込むのに最も適したpHを求めることができる。

- 20 各種pHにおける基質の細胞内取り込み量 (基質の細胞内移行量) の測定は、次のようにして行われる。プロトン駆動型トランスポーターを発現した細胞を使用し、in vitro 条件下にて各種pH条件下における基質の細胞内取り込み量を測定する。例えば、PEPT1に認識される各基質のpHプロファイルは、消化管モデル細胞であるヒト大腸ガン由来 Caco-2 細胞等のPEPT1を発現した細胞を使用し、in vitro 条件下にて各種pH条件下 (例えば、pH 5.4-7.5 程度) における基質の細胞内取り込み量を測定すればよい。

- 25 具体的な測定方法は、報告された方法 (Tsuji A, Takanaga H, Tamai I, Terasaki T. Transcellular transport of benzoic acid across Caco-2 cells by a pH-dependent and carrier-mediated transport mechanism. *Pharm Res*, 11: 30-37 (1994)) に従って行われる (例えば、実施例1を参照)。

In vitro 条件下における細胞内移行性は、in vivo 消化管における膜透過性を評価する指標となりうる。生理的条件下での消化管のpHは通常ヒトで5.4～7.5と報告されているので(Davies B. and Morris T., Physiological parameters in laboratory animals and humans, Pharm. Res. 10: 1093-1095 (1993))、実際にはin vivoでの消化管からの吸収はこの条件に支配されるものと考えられる。

或いは、各種pHにおける基質の細胞内取り込み量は、ラット消化管ループ(腸管ループ)を用いて各種pHにおける基質の消化管内移行量を測定して見積もることも可能である(インシチュクローズドループ法(in situ closed loop method))。ラット消化管ループを使用する場合には、以下の文献記載の方法を参考にして行われる。Barr WH, Riegelman S. Intestinal drug absorption and metabolism. I. Comparison of methods and models to study physiological factors of in vitro and in vivo intestinal absorption. *J Pharm Sci*, 59: 154-163 (1970)。吉富博則, 基本的な消化管吸収実験, 「生物薬剤学実験マニュアル」, 後藤 茂(編), 清至書院, 東京, 2-22 (1985)。

例えば、ラットをペントバルビタールナトリウム(50 mg/kg)腹腔内投与により麻酔する。その後、正中線に沿って開腹し腸管を露出させて、回腸にループを作製する(例えば、図6に模式図を示す)。薬液及び高分子を含むMES buffer (5 mM KCl, 100 mM NaCl, 10 mM 2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸(2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid) (MES), 85 mM マンニトール(mannitol), ポリエチレングリコール(polyethylene glycol) 0.01%; pH 6.0; 浸透圧 290 mOsm/kg)を腸管ループ内に入れ両端を結紮する。その後、直ちに腸管ループを腹腔内に戻し、白熱ランプを使用して体温を維持する。投与20分後、腸管ループ内溶液を回収し、pHをpHメーターで測定し及び薬物量をHPLCにより測定する。

また、PEPT1における各基質のpHプロファイルは、例えば、アフリカツメガエル卵母細胞(*X. laevis Oocyte*)にcRNA hPEPT1を注入し、各種pHにおける卵母細胞への取り込みを測定してもよい。あるいは電気生理学的手法により、ペプチドトランスポーターの基質を添加した時の電位差を検出して測定してもよ

い。

具体的には、Fei YJ, Kanai Y, Nussberger S, Ganapathy V, Leibach FH, Romero MF, Singh SK, Boron WF, Hediger MA. Expression cloning of a mammalian proton-coupled oligopeptide transporter. *Nature*, 368: 563-566 (1994)に記載の方法に準じて測定する。

一般に、消化管における基質の至適取り込みpHは、対象となるプロトン駆動型トランスポーター及びその基質の種類により変動する。しかし、上記の手法を用いて測定されるpHプロファイルにより、各pHでのプロトン駆動型トランスポーターにおける基質の細胞内取り込み量が明らかとなり、プロトン駆動型トランスポーターにおける基質の「至適細胞内取り込みpH」が求められる。

pH感受性高分子

本発明で用いられるpH感受性高分子とは、生体内における特定部位(例えば、消化管)のpHを検知してプロトンの放出を制御する高分子をいう。例えば、pHが高くなればプロトンを放出し、溶解もしくは膨潤する高分子をいう。このpH感受性高分子の一定量を、基質と共に配合することにより、消化管内(特に、消化管刷子縁膜側表面近傍)が上記のプロトン駆動型トランスポーターの基質の至適細胞内取り込みpHになるように調節される。

具体的には、乾燥メタクリル酸コポリマー、メタクリル酸コポリマーLD、メタクリル酸コポリマーL、メタクリル酸コポリマーS、ポリアクリル酸、マレイン酸-n-アルキルビニルエーテル共重合体、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等が例示される。より具体的には、オイドラギット (Eudragit) (登録商標、以下同じ) L100-55、オイドラギット 30D-55、オイドラギット L100、オイドラギット S100、オイドラギット P-4135F 等が例示される。これらは、いずれも市販されているもの又は公知の方法で製造できるものを採用することができる。

これらのpH感受性高分子のうち、本発明の製剤に好適に用いられるものとしては、例えば、オイドラギット L100-55、オイドラギット L100、オイドラギット S100、オイドラギット P-4135F 等が挙げられ、より好ましくはオイドラギット

L100-55、オイドラギット L100 である。

製剤

本発明の製剤は、上述のプロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の pH プロファイルに基づき、該化合物に、消化管内を基質の至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子を配合して調製される。上記の消化管内とは、例えば小腸内のことを意味し、具体的には消化管刷子縁膜側表面近傍、より具体的にはプロトン駆動型トランスポーターが発現する小腸上皮細胞刷子縁膜側表面及びその近傍を意味する。

pH 感受性高分子の配合量は、例えば、設定した基質吸収量になるように、実験により求めることができる。In situ closed loop 法、ラットへの経口投与試験法等を用いて、基質に対する pH 感受性高分子の配合量を変化させて、設定した基質吸収量になるよう pH 感受性高分子の配合量を求める（例えば、実施例 3 を参照）。

本発明の製剤における pH 感受性高分子の配合量は、基質の特性により変化するが、例えば、基質 1 重量部に対し、1 ～ 1000 重量部程度、好ましくは 50 ～ 500 重量部程度、より好ましくは 100 ～ 300 重量部程度を配合すればよい。或いは、pH 感受性高分子の配合量は、製剤全体の重量に対し 5 ～ 40 重量％程度、好ましくは 10 ～ 20 重量％程度配合されていてもよい。

プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物と pH 感受性高分子を含む本発明の製剤の好ましい配合形態としては、例えば、ジペプチドとメタクリル酸コポリマーを配合したもの、β-ラクタム抗生物質とメタクリル酸コポリマーを配合したもの等が挙げられる。

ジペプチドとメタクリル酸コポリマーを配合したもののうち、ジペプチドの具体例としては、グリシルサルコシン、カルノシン、リジノプリル等が挙げられ、メタクリル酸コポリマーの具体例としては、乾燥メタクリル酸コポリマー（例えば、オイドラギット L100-55）、メタアクリル酸コポリマー LD（例えば、オイドラギット 30D-55）、メタアクリル酸コポリマー L（例えば、オイドラギット L100）、メタアクリル酸コポリマー S（例えば、オイドラギット S100）等が挙げられる。

より好ましい配合形態としては、グリシルサルコシン又はカルノシンとオイドラギット L100-55 とを配合したものが挙げられる。

β-ラクタム抗生物質とメタクリル酸コポリマーを配合したもののうち、β-ラクタム抗生物質としては、ペニシリン系、セフェム系抗生物質等が挙げられ、
5 その具体例としては、アモキシリン、アンピシリン、シクラシリン、フェノキシ
-メチルペニシリン、プロピシリン、カルフェシリン、カルペニシリン、バカム
ピシリン、ピバムピシリン、セファドロキシル、セフィキシム、セフチブテン、
セファクロル、セファレキシン、セフラジン、SCE-100、セファトリジン、セファ
ロチン、セフジニル、ロラカロベフ、FK089、ラタモキシセフ、ピブセファレキシ
ン、セファゾリン、セフォペラゾン、セフォキシチン、セフォチアム、セフメタ
10 ザール等が挙げられる。メタクリル酸コポリマーの具体例としては、上述のもの
が挙げられる。より好ましい配合形態としては、セファドロキシル、セフィキシ
ム又はFK089とオイドラギット L100-55 とを配合したものの等が挙げられる。

本発明の製剤は、上記のプロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物
15 (基質)と所定量のpH感受性高分子を含有してなり、そのまま哺乳動物(特に、
ヒト)における経口投与用の散剤として用いることができるが、さらに種々の方
法により製剤化し投与することも可能である。例えば、錠剤、顆粒剤、カプセル
剤、坐剤、注腸剤として用いることもできる。これらの製剤中には、必要に応じ
て製剤上知られる賦形剤、崩壊剤、滑沢剤等の種々の添加剤を配合することがで
20 きる。

特に、消化管全域に渡って薬物及びpH感受性高分子を送達することが可能な、
腸溶性の徐放化製剤等とするのが好ましい。或いは、pH感受性高分子と薬剤を
含む液状の製剤(液剤、懸濁剤、シロップ剤など)としてもよく、これにより、
水分含量の点で通常の錠剤と比較して、消化管全域に渡って薬物及びpH感受性
25 高分子を送達することが可能となる。これらの製剤は、いずれも公知の方法に従
い製造することが可能である。

本発明の製剤によれば、共存するpH感受性高分子により消化管内が基質の至
適細胞内取り込みpHに制御されるため、消化管内においてプロトン駆動型トラ

5 ンスポーターに認識される化合物の吸収性が向上する。特に、本発明の製剤によれば、至適細胞内取り込み pH を維持する適量の pH 感受性高分子が配合されているため、プロトンが減少する消化管下部（回腸など）においてもプロトン駆動型トランスポーターの輸送能力が低下せず良好な薬物（基質）の吸収性を示すという特徴を有している。そのため、本発明の製剤は、経口投与においても十分な薬物血中濃度を得ることができ、高いバイオアベイラビリティーが達成される。なお、pH 感受性高分子により消化管内の pH が制御されるのは一過的であり、消化管内に何ら悪影響を与えるものではない。ここで一過的にとは、基質が細胞内に吸収されるのに必要な時間及び部位において一時的に pH が制御されること
10 意味する。

図面の簡単な説明

図 1 A は、Caco-2 細胞における、各 pH でのジペプチドの細胞内取り込み量（pH プロファイル）を示すグラフである。

15 図 1 B は、Caco-2 細胞における、各 pH での β -ラクタム抗生物質の細胞内取り込み量（pH プロファイル）を示すグラフである。

図 2 は、酸性高分子の MES 緩衝液の pH に及ぼす影響を示すグラフである。

図 3 は、 β -ラクタム抗生物質（CDX 又は CFIX）にオイドラギット L100-55 を併用投与した場合の、ラット小腸下部における吸収率及び pH を示すグラフ
20 である。

図 4 は、CFIX に高分子を添加しラットに経口投与した場合の血中濃度推移を示すグラフである。

図 5 は、CFIX 及びオイドラギット L100-55 に CDX を添加しラットに経口投与した場合の、CFIX の血中濃度推移を示すグラフである。

25 図 6 は、In situ closed loop 法で用いられる腸管ループを模式的に示した図である。

発明を実施するための最良の形態

次に、実施例を挙げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

〔実施例 1〕

PEPT1 によるジペプチド及び β -ラクタム抗生物質の細胞内取り込みに対して
5 細胞外液が影響を及ぼすかどうかを明らかにするため、消化管モデル細胞 Caco-2 細胞を用いて、ジペプチドである [14 C] グリシルサルコシン (Glycylsarcosine) ([14 C] GlySar) 及び [3 H] カルノシン (carnosine)、及び β -ラクタム抗生物質であるセファドロキシル (cefadroxil) (CDX)、セフィキシム (cefixime) (CFIX) 及び FK089 について、それらの pH 5.0 ~ pH 7.0 における細胞内取り込みを評価した。

10 4 穴プレートに培養した細胞を 37° C に加温した Hanks' -balanced salt solution (HBSS) (0.952 mM CaCl_2 , 5.36 mM KCl, 0.441 mM KH_2PO_4 , 0.812 mM MgSO_4 , 136.7 mM NaCl, 0.385 mM Na_2HPO_4 , 25 mM D-glucose, 10 mM HEPES, pH 7.4; 浸透圧 315 mOsm/kg) 1 mL で 3 回洗浄し、薬液を含む HBSS 250 μ L を添加し取り込みを開始する。一定時間後に氷冷した HBSS 1 mL で 3 回洗浄することで取り込み
15 を終了させる。取り込み終了後、5 N NaOH 0.25 mL を加えて 2 時間振盪して細胞を可溶化し、5 N HCl 0.25 mL で中和し、細胞抽出液に含有される薬物量を、液体シンチレーションカウンターもしくは液体クロマトグラフィー (HPLC) により定量する。細胞の蛋白量は、Bradford 法に従い、Protein Assay Kit (Bio-Rad Richmond, CA, USA) を用いて定量する (Bradford MM. A rapid and sensitive method
20 for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248-254 (1976))。

Caco-2 細胞における上記のジペプチド及び β -ラクタム抗生物質の取り込みに及ぼす pH の影響を、図 1 A 及び図 1 B に示した。

図 1 A は、異なる pH における、37° C で 10 μ M [14 C] GlySar (●) 及び 0.15 μ M [3 H] カルノシン (▲) の Caco-2 細胞における 5 分までの取り込みを測定したものである。各値は 3 ~ 4 の実験の平均 \pm 標準誤差を表す。
25

図 1 A によれば、[14 C] GlySar の取り込みは明らかに pH に依存し、pH 5.0 ~ pH 6.0 で最適な取り込みが観察された。これに対し、弱酸性領域においてはカチオン性を示す [3 H] カルノシンの細胞内取り込みは、pH 6.0 ~ 7.0 において高いこ

とが示された。すなわち、最適な取り込みを示す pH が [^{14}C] GlySar と [^3H] カルノシンでは異なることが示された。

図 1 B は、2 mM CFIX (□)、2 mM FK089 (○) 及び 2 mM CDX (△) の 15 分までの取り込みを測定したものである。各値は 3 ~ 4 の実験の平均 ± 標準誤差を表す。

一方、図 1 B で示すように、 β -ラクタム抗生物質の Caco-2 細胞による最適取り込みにおいても、顕著な pH 依存が示された。細胞外液の pH を 6.0 から 5.0 に低下させた時、アニオン性 β -ラクタム抗生物質である CFIX 及び FK089 の細胞内取り込みは顕著に増加することが示された。これに対し、生理的 pH において両性イオン β -ラクタム抗生物質である CDX の場合には、pH 6.0 において最適な取り込みが観察された。

[実施例 2]

pH 感受性高分子の添加によりに pH の制御が可能であるかどうかを明らかにするため、MES 緩衝液の pH に及ぼす高分子の影響について検討を行った。

pH 感受性高分子としてメタアクリル酸コポリマー オイドラギット L100-55、pH 非感受性高分子としてアミノアルキルメタクリレートコポリマー オイドラギット RS P0 を用いた。

MES 緩衝液 (pH 6.0) に、高分子 (メタアクリル酸コポリマー オイドラギット L100-55 若しくは pH 非感受性高分子としてアミノアルキルメタクリレートコポリマー オイドラギット RS P0) を添加し、溶液の pH を、pH メーターを使用して測定した。

緩衝液の pH は、オイドラギット L100-55 の添加濃度に従って低下した (図 2)。図 2 中、オイドラギット RS P0 を添加した MES 緩衝液の pH (●)、オイドラギット L100-55 を添加した MES 緩衝液の pH (○) を示す。ポリマー未添加の pH と比較してオイドラギット L100-55 の添加濃度が 20% の場合には、およそ pH 3.0 まで低下した。一方、構造内にプロトン解離基を有さないオイドラギット RS P0 では、pH の顕著な低下は観察されなかった。

[実施例 3]

5 β -ラクタム抗生物質の生理的条件下におけるラット消化管からの吸収が、消化管腔内 pH をコントロールすることにより改善されるかどうかを明らかにするため、pH 感受性高分子（オイドラギット L100-55）の存在もしくは非存在下における両性化合物 CDX 及びアニオン性化合物 CFIX の吸収を、イン シチュ クローズド
ループ法（in situ closed loop method）により評価した（図 6 に模式図を示した）。

β -ラクタム抗生物質（CDX 又は CFIX）を 10 mM ME S 緩衝液（pH 6.0）に、1 mM CDX、0.5 mM CFIX になるように添加し、更にオイドラギット L100-55 を全量で 10 wt% もしくは 20 wt% になるように配合し、本発明の経口組成物を調製した。
10 また、対照としてオイドラギット L100-55 を含まない β -ラクタム抗生物質溶液をコントロール溶液として調製した。

SD 系雄性ラットの盲腸接合部（回腸の終末端と盲腸開始部位との接合部）より胃に向かって 14 cm 離れたところまでに作成した腸管ループに、これらの組成物を投与した。投与後、20 分後に腸管ループ内の残存液を回収し、回収液中の
15 β -ラクタム抗生物質濃度を HPLC により測定した。また、pH メーターを用いて回収液の pH についても測定した。得られた回収液中の β -ラクタム抗生物質濃度を、投与液中濃度より減じることにより吸収性を評価した。

図 3 の A に示すように、オイドラギット L100-55 未添加の CDX の吸収率は約 40% であった。しかしながら、20 wt% のオイドラギット L100-55 を添加した場合には、
20 CDX の吸収率は約 80% であり顕著な増加が観察された。さらに、消化管腔内 pH は、オイドラギット L100-55 の添加により低下した（図 3 の B）。

一方、CFIX はラット回腸からはほとんど吸収されなかった（図 3 の C）。しかしながら CDX と同様に 20 wt% のオイドラギット L100-55 の存在により、CFIX の吸収率は約 35% と顕著に向上した。また、消化管内液の pH もオイドラギット L100-55
25 の添加により減少した（図 3 の D）。

〔実施例 4〕

pH 感受性高分子を用いて消化管内 pH をコントロールすることにより、ペプチド性化合物のラットにおける経口吸収性が改善されるのかどうかを明らかにする

ため、ペプチド性化合物 CFIX に pH 感受性高分子（オイドラギット L100-55）もしくは pH 非感受性高分子（オイドラギット RS P0）を同時に経口投与し、CFIX の血漿中濃度推移を評価した。

CFIX の 0.23 mg/mL 水溶液に、オイドラギット L100-55 を全量で 5wt% になるように配合し、本発明の経口組成物を調製した。また、対照としてオイドラギット L100-55 を含まない CFIX 溶液をコントロール溶液として調製した。これらの組成物を、一昼夜絶食した SD 系雄性ラット（体重：190-220 g）に、CFIX の投与量として 2.3 mg/kg となるように経口投与した。投与後 15 分から 480 分に渡り採血を行い、血漿中 CFIX 濃度を HPLC により測定した。得られた CFIX 血濃度プロファイルより、濃度時間曲線下面積（AUC）及び最高血漿中濃度（Cmax）を算出した。

図 4 は、ラットに上記組成物（CFIX：2.3 mg/kg）を経口投与した後の CFIX の吸収プロファイルを示したものである。それぞれのプロットは、ポリマー非存在下の CFIX の濃度（○）、オイドラギット L100-55（500 mg/kg）存在下の CFIX の濃度（●）、及びオイドラギット RS P0（500 mg/kg）存在下の CFIX の濃度（□）を示す。各点は 5 つの実験の平均±標準誤差を表す。

表 1 より、CFIX と pH 非感受性オイドラギット RS P0 を同時投与した場合には、CFIX 単独投与のコントロールと比べて、濃度時間曲線下面積（AUC）、最高血漿中濃度（Cmax）及び最高血漿中濃度時間（Tmax）に有意な差は認められず、CFIX の経口吸収性に変化は観察されなかった。

しかしながら、CFIX と pH 感受性酸性オイドラギット L100-55 を同時投与した場合には、未添加のコントロールと比較して、AUC 及び Cmax が顕著に増加し、CFIX の経口吸収性が顕著に増加した。

25 [実施例 5]

実施例 4 でみられた pH 感受性酸性高分子による CFIX の吸収改善効果が、小腸上皮細胞に発現するペプチドトランスポーター（PEPT1）を介在するのかどうかを明らかにするため、PEPT1 の基質である CDX を同時投与し、CFIX の経口吸収性に

及ぼす影響について検討した（図 5、表 1）。

実験操作は、CDX を同時投与する以外は実施例 4 と同様にして行った。

図 5 は、ラットに組成物（CFIX：2.3 mg/kg）を投与後の CFIX の経口投与プロファイルにおける CDX の影響を評価したものである。それぞれのプロットは、オイドラギット L100-55（500 mg/kg）+CDX 0 mM（●）、オイドラギット L100-55（500 mg/kg）+CDX 2 mM（▲）、及びオイドラギット L100-55（500 mg/kg）+CDX 10 mM（■）のものを示す。各点は 5 つの実験の平均±標準誤差を表す。

図 5 及び表 1 より、CDX 2 mM を同時投与した場合には、CDX を同時投与しない場合と比較して、CFIX の AUC に有意な差は認められなかったものの、Cmax は有意に低下した。さらに、CDX 10 mM を同時投与した場合には、CFIX の AUC 及び Cmax は顕著に低下した。

以上より、オイドラギット L100-55 併用投与による CFIX の吸収改善効果には、ペプチドトランスポーターによる吸収が関与しているものと考えられる。

図 4 及び図 5 における血中濃度推移データから、薬物動態パラメーターを算出した結果を表 1 にまとめた。

サンプル	AUC _{0-8h} (µg·hr/mL)	Cmax (µg/mL)	Tmax (hr)
コントロール	10.81 ± 1.48	4.13 ± 0.50	0.72 ± 0.20
オイドラギット L100-55	27.60 ± 2.39 ^a	11.52 ± 1.86 ^a	1.20 ± 0.20
オイドラギット L100-55 + CDX 2 mM	24.24 ± 4.20	6.39 ± 0.88 ^b	1.00 ± 0.00
オイドラギット L100-55 + CDX 10 mM	11.52 ± 0.99 ^b	3.40 ± 0.60 ^b	1.43 ± 0.20
オイドラギット RS PO	8.83 ± 0.28	3.39 ± 0.16	1.00 ± 0.00

・各データは少なくとも 3 つの実験の平均±標準誤差を表す。

・a p<0.05 における対応するコントロールの値から大きく相違する。

・b p<0.05 における対応するオイドラギット L100-55 の値から大きく相違する。

なお、本明細書に記載された公知文献は、参考として援用される。

発明の効果

本発明の製剤は、プロトン駆動型トランスポーターがその至適細胞内取り込み pHにおいて基質の取り込みが最も促進されるという新規な知見に基づいて完成されたものである。すなわち、本発明の製剤は、基質のプロトン駆動型トランスポーターにおける至適細胞内取り込み pHに着目し、その pHに適合する量の pH感受性高分子を配合することによって製造されるものである。

そのため、本発明の製剤は、医薬品化合物の消化管での吸収を飛躍的に改善し、経口投与等において十分な治療効果が期待できる高い血中濃度が達成される。

10 また、これまで難吸収性として知られていたプロトン駆動型トランスポーターの基質においても、消化管全域において高い吸収率を達成することができる。

従って、本発明の製剤は、経口投与等での治療効果を低用量で有効に向上させることができるという、医薬製剤として優れた特性を有している。

請求の範囲

1. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物とpH感受性高分子を含む製剤であって、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける
5 該化合物の至適細胞内取り込みpHとするのに足る量のpH感受性高分子を含有してなる、消化管での吸収性が良好な製剤。
2. プロトン駆動型トランスポーターが、小腸の上皮細胞に発現する吸収輸送系トランスポーターである請求項1に記載の製剤。
3. プロトン駆動型トランスポーターが、ペプチドトランスポーター、モノ
10 カルボン酸トランスポーター、及びD-サイクロセリンを輸送するアミノ酸トランスポーターからなる群から選ばれる1種である請求項2に記載の製剤。
4. プロトン駆動型トランスポーターが、ペプチドトランスポーターである請求項3に記載の製剤。
5. ペプチドトランスポーターに認識される化合物が、ペプチド、 β -ラクタム抗生物質、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、抗ウイルス薬、抗腫瘍薬、及び
15 ω -アミノカルボン酸からなる群から選ばれる少なくとも1つである請求項4に記載の製剤。
6. プロトン駆動型トランスポーターが、モノカルボン酸トランスポーターである請求項3に記載の製剤。
7. モノカルボン酸トランスポーターに認識される化合物が、乳酸、ピルビン酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、グリコール酸、ニコチン酸、サリチル酸、安息香酸、パラアミノ安息香酸及びホスカルネットからなる群から選ばれる少なくとも1つである請求項6に記載の製剤。
20
8. プロトン駆動型トランスポーターが、D-サイクロセリンを輸送するア
25 ミノ酸トランスポーターである請求項3に記載の製剤。
9. D-サイクロセリンを輸送するアミノ酸トランスポーターに認識される化合物が、L-アラニン、 β -アラニン、L-プロリン及びグリシンからなる群から選ばれる少なくとも1つである請求項8に記載の製剤。

10. プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込みpHが、該プロトン駆動型トランスポーターを発現した細胞を使用し、各種pH条件における該化合物の細胞内取り込み量を評価して測定されたものである項1に記載の製剤。
- 5 11. プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込みpHが、イン シチュ クローズド ループ法を用いて該化合物の消化管内移行量を評価して測定されたものである項1に記載の製剤。
- 10 12. pH感受性高分子が、乾燥メタクリル酸コポリマー、メタアクリル酸コポリマーLD、メタアクリル酸コポリマーL、メタアクリル酸コポリマーS、ポリ
アクリル酸、マレイン酸-n-アルキルビニルエーテル共重合体、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、及びヒドロキシプロピルメチルセル
ロースフタレートからなる群から選ばれる少なくとも1つである請求項1に記載の製剤。
- 15 13. pH感受性高分子が、オイドラギット L100-55、オイドラギット 30D-55、
オイドラギット L100、オイドラギット S100、オイドラギット P-4135F、ポリア
クリル酸、マレイン酸-n-アルキルビニルエーテル共重合体、ヒドロキシプロピル
メチルセルロースアセテートサクシネート、及びヒドロキシプロピルメチルセル
ロースフタレートからなる群から選ばれる少なくとも1つである請求項1に記載
の製剤。
- 20 14. 請求項1～13のいずれかに記載の経口投与用製剤。
15. 下記の(1)及び(2)の工程を含む消化管での吸収性が良好な製剤の製法：
(1) プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の該プロトン駆動型
トランスポーターにおける至適細胞内取り込みpHを測定する工程、及び
(2) 上記至適細胞内取り込みpHとするのに足る量のpH感受性高分子を該化
25 合物に配合する工程。
16. 請求項15に記載の製法により得られる製剤。
17. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸
収性を向上させるための製剤であって、消化管内を該プロトン駆動型トランスポ
ーターにおける該化合物の至適細胞内取り込みpHとするのに足る量のpH感受

性高分子と、プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物とを含有してなる製剤。

18. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸収性を向上させる方法であって、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーター
5 における該化合物の至適細胞内取り込み pH に制御することを特徴とする方法。

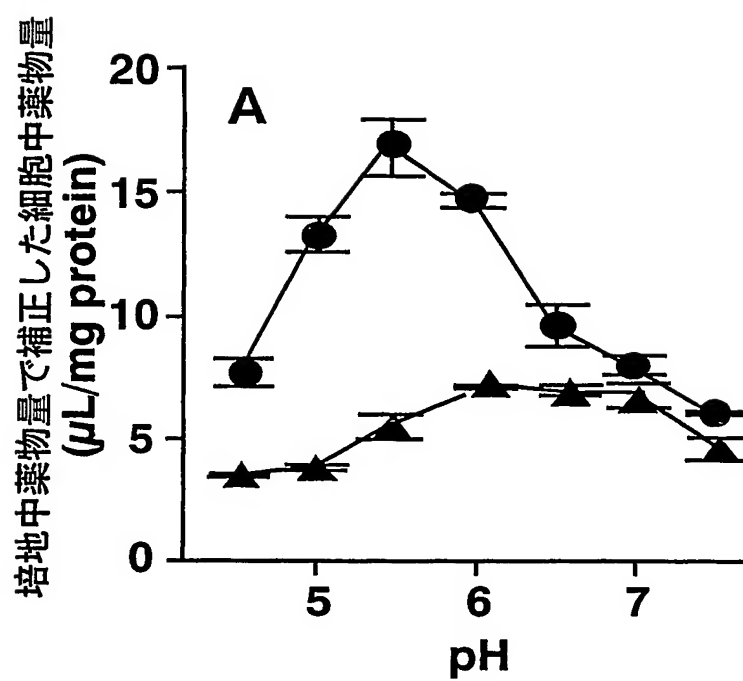
19. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸収性を向上させるために、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子を配合する方法。

20. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸収性を向上させるための、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子の使用。
10

21. プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物の消化管での吸収性が向上された製剤を製造するための、消化管内を該プロトン駆動型トランスポーターにおける該化合物の至適細胞内取り込み pH とするのに足る量の pH 感受性高分子の使用。
15

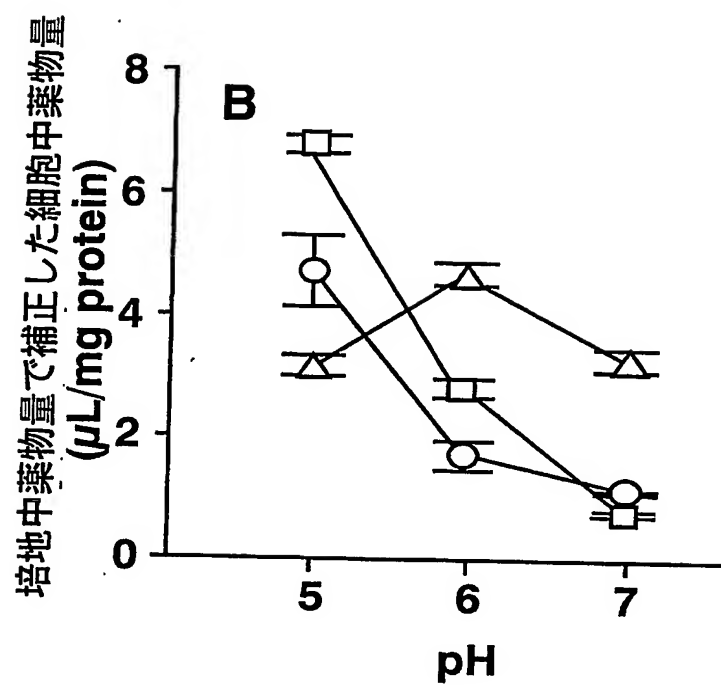
1/7

図 1 A



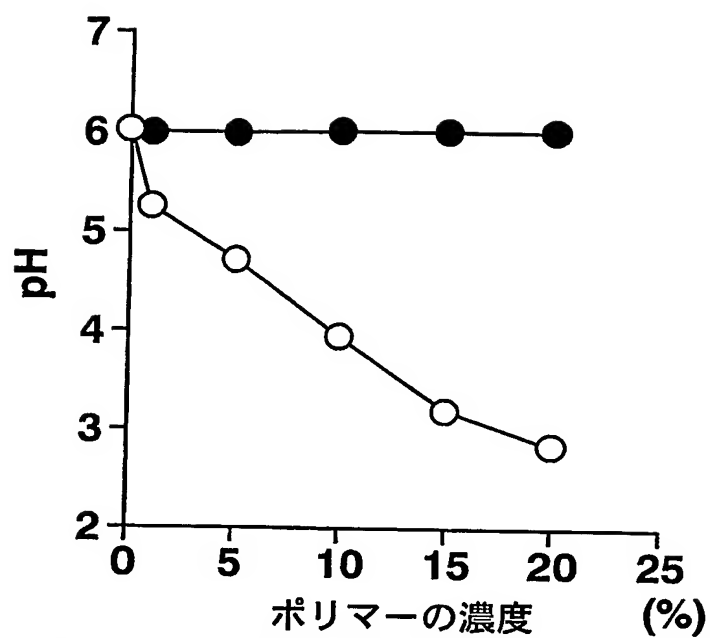
2/7

図 1 B



3/7

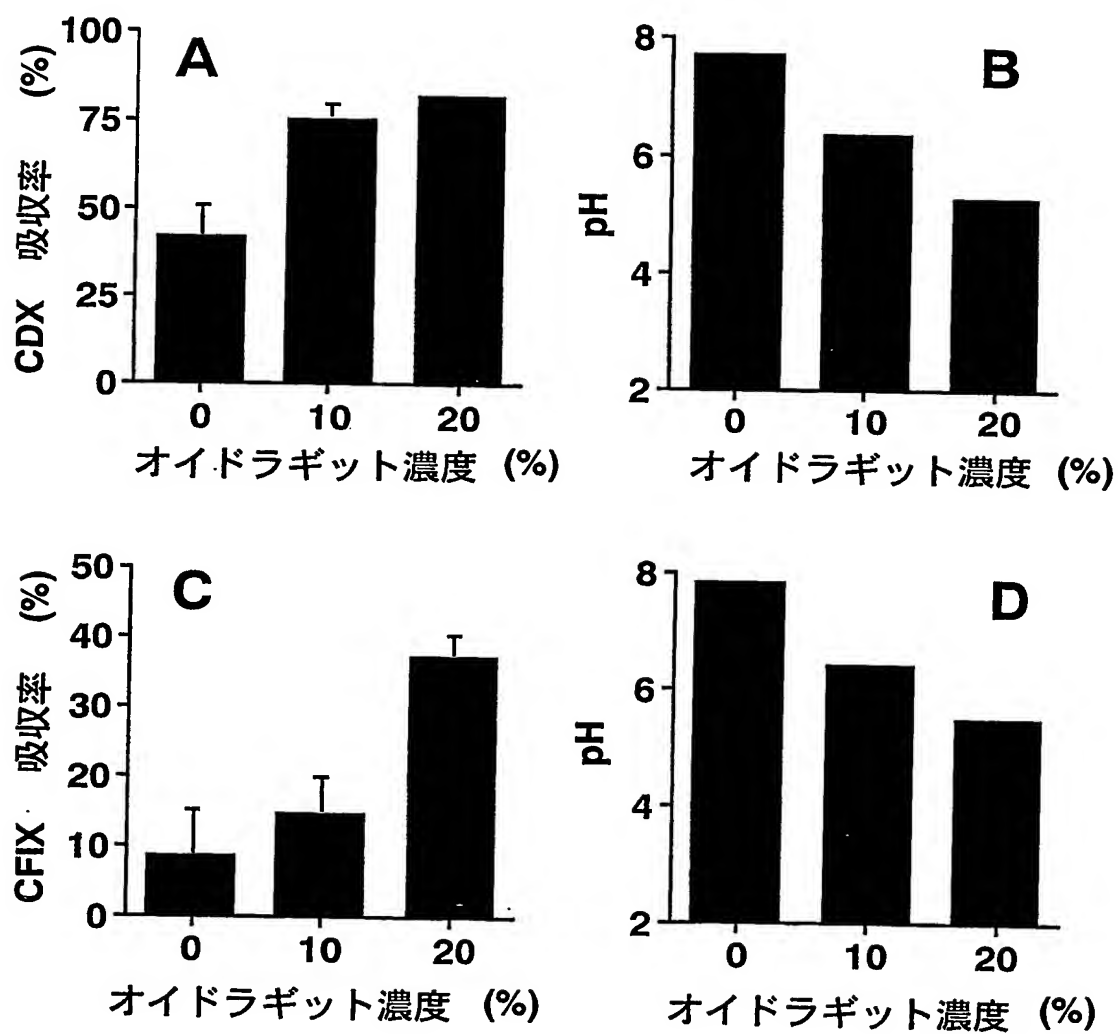
図 2



各値は3つの実験の平均±標準誤差を表す

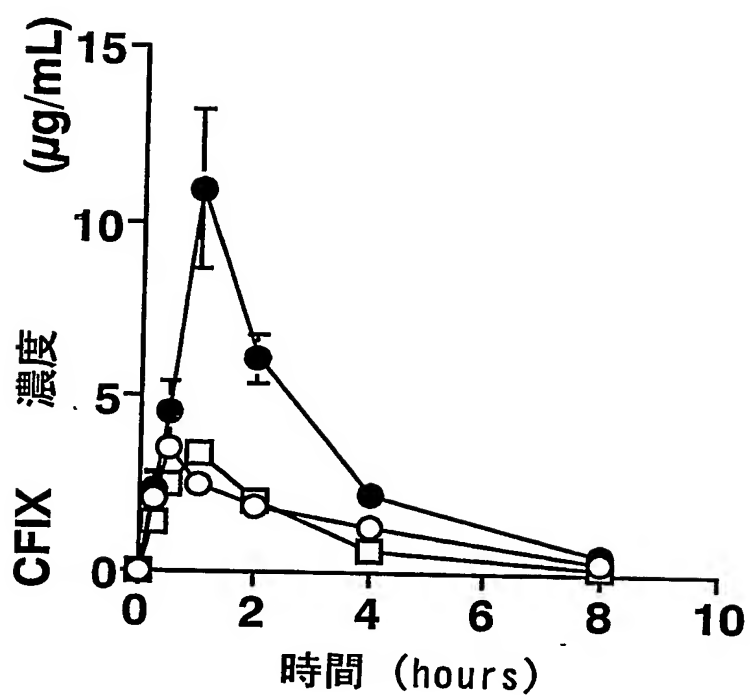
4/7

図 3



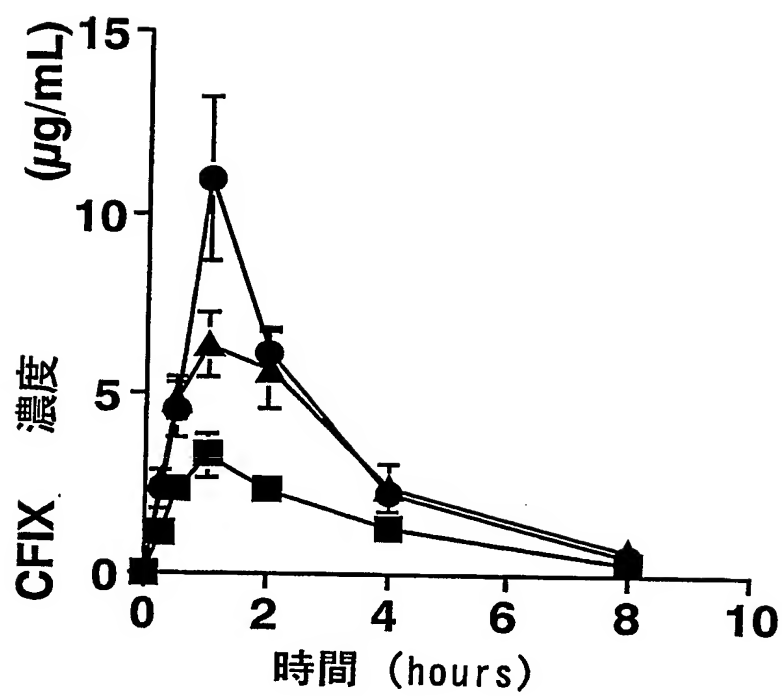
5/7

図 4



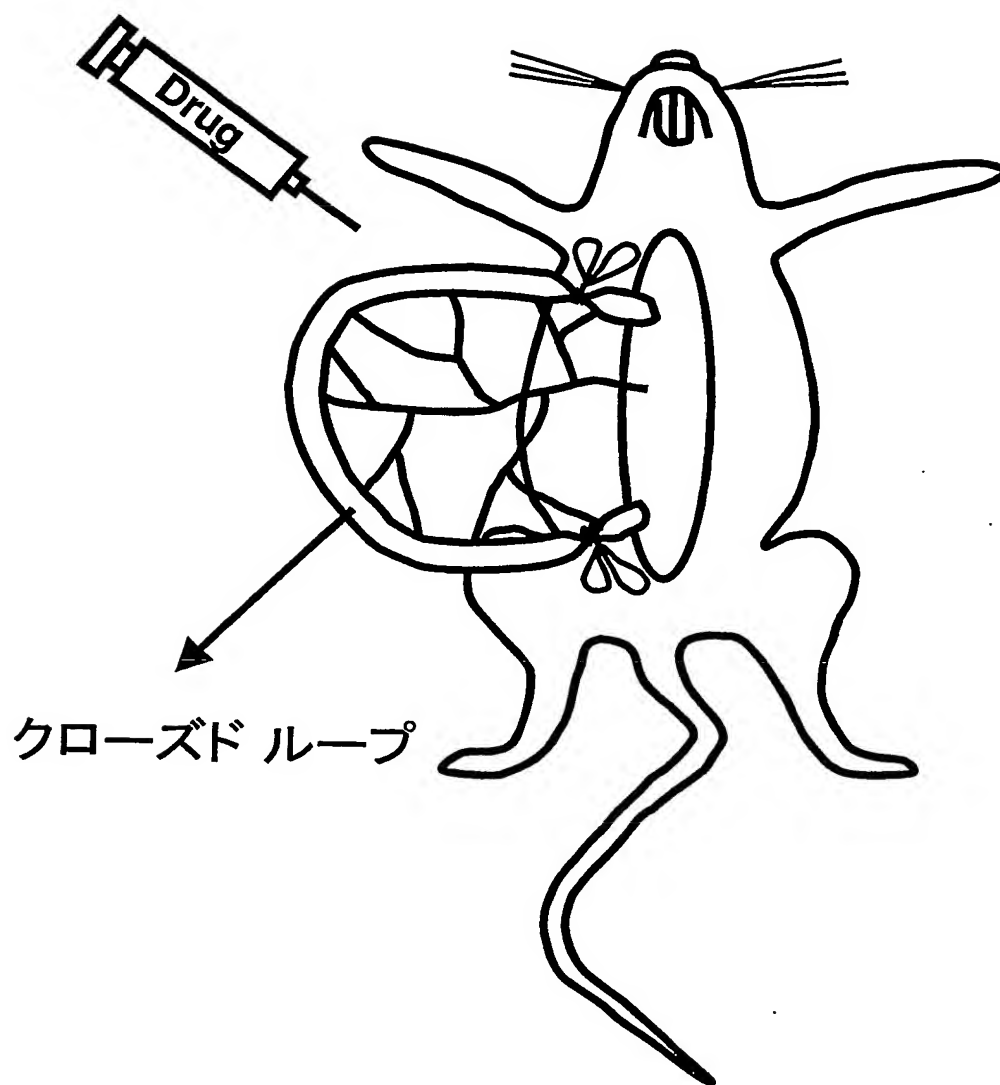
6/7

図 5



7/7

図 6



イン シチュ クローズド ループ法

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/000070

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K45/08, 38/02, 47/32, A61P31/04, 31/12, 35/00, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K45/00-45/08, 38/00-38/42, 47/00-47/32, A61P1/00-43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2004 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN), BIOTECHABS (STN),
Caplus (STN), WPI (DIALOG), JSTPLUS (JOIS), JMEDPLUS (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	Ikumi TAMAI, "Transporter o Kaishita Yakubutsu Kyushu no Bunshi Kiko Ronteki Kenkyu", Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, 1997, 117(7), pages 415 to 434	1-7, 10-21 8, 9
Y A	Akira TSUJI, "Seitaimaku Yuso no Bunshi Kiko ni Kansuru Seibutsu Yakuzaigakuteki Kenkyu", Dai 122 Nenkaï The Pharmaceutical Society of Japan Koen Yoshishu-1, The Pharmaceutical Society of Japan, 2002, page 40	1-7, 10-21 8, 9
Y A	Ikumi TAMAI, "Shocho Johi Transporter-gun no Bunshi Kiko Ronteki Kaiseki to Yakubutsu no Keiko Delivery eno Oyo", Advances in pharmaceutical sciences, 2000, 16, pages 77 to 87	1-7, 10-21 8, 9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
18 February, 2004 (18.02.04)

Date of mailing of the international search report
09 March, 2004 (09.03.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/000070

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	Ikumi TAMAI, "Seitai Tokuiteki Kiko o Kaishita Yakubutsu no Shocho Johi Saibonai Torikomi. Bunpitsu no Bunshi Mechanism", Xenobiotic Metabolism and disposition, 1999, 14(2), pages 158 to 170	1-7,10-21 8,9
Y A	KITAGAWA, S. et al., pH-Dependent Inhibitory Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors on Cefroxadine Up-take by Rabbit Intestinal Brush-Border Membrane Vesicles and Their Relationship with Hydrophobicity and the Ratio of Zwitterionic Species., Biol.Pharm. Bull., 1999, 22(7), pages 721 to 724	1-5,10-21 6-9
Y A	GUO, A. et al., Interactions of a Nonpeptidic Drug, Valacyclovir, with the Human Intestinal Peptide Transporter (hPEPT1) Expressed in a Mammalian Cell Line., J.Pharmacol.Exp.Ther., 1999, 289(1), pages 448 to 454	1-5,10-21 6-9
Y A	TSUJI, A. et al., pH-Dependent Interstitial Transport of Monocarboxylic Acid: Carrier-Mediated and H ⁺ -Cotransport Mechanism Versus pH-Partition Hypothesis., J.Pharm.Sci., 1990, 79(12), pages 1123 to 1124	1-3,6,7, 10-21 4,5,8,9
Y A	RANALDI, G. et al., D-Cycloserine Uses an Active Transport Mechanism in the Human Intestinal Cell Line Caco 2., Antimicrob. Agents Chemother., 1994, 38(6), pages 1239 to 1245	1-3,8-21 4-7
Y A	THWAITES, D.T. et al., D-Cycloserine transport in human epithelial (Caco-2) cells: mediation by a H ⁺ -coupled amino acid transporter., Br.J.Pharmacol., 1995, 115, pages 761 to 766	1-3,8-21 4-7
Y A	OH, D.-M. et al., Improved Intestinal Transport of PD158473 an N-Methyl-D-Aspartate(NMDA) Antagonist, by Improvement of Multiple Transporters., J.Pharm.Sci., 2002, 91(12), pages 2579 to 2587	1-3,8-21 4-7
A	Yoshimichi SAI, Akira TSUJI, "Transporter o Kaishita Yakubutsu Sogo Sayo", Igaku no Ayumi, 2001, 197(1), pages 23 to 31	1-21
A	WO 03/000285 A1 (Japan Science and Technology Corp.), 03 January, 2003 (03.01.03), Full text & JP 2003-002843 A	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/000070

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 91/16042 A1 (EURAND INTERNATIONAL SPA), 31 October, 1991 (31.10.91), Full text & JP 4-224517 A & EP 524989 A1 & CA 2035155 A & CA 2040471 A & AU 9176798 A & PT 97370 A & ZA 9102792 A & US 5900252 A	1-21
Y	EP 612520 A2 (PFIZER INC.), 31 August, 1994 (31.08.94), Full text & JP 7-000799 A & JP 7-002645 A & NO 9400642 A & AU 99456400 A & CA 2116288 A & FI 9400866 A & US 5358502 A & ZA 9401262 A & NZ 250967 A & US 5609590 A & CN 1098286 A	1-21
Y	WO 00/32172 A1 (Kanji TAKADA), 08 June, 2000 (08.06.00), Claims; examples & JP 2002-531394 A & AU 200014101 A & BR 9916871 A & EP 1135112 A1 & KR 2001086057 A & CN 1333680 A	1-21
Y	Meguo OKAHATA, "Shigeki Otosei Capsule-maku o Mochiita Johosei no Seigyo", DDS Gijutsu no Shinpo, Japan Technology Transfer Association et al., 1990, ISBN4-8407-1834-2, pages 137 to 160	1-21
Y A	BARR, W.H. et al., Intestinal Drug Absorption and Metabolism I: Comparison o Methods and Models to Study Physiological Factors of <i>In Vitro</i> and <i>In Vivo</i> Intestinal Absorption., J.Pharm.Sci., 1970, 59(2), pages 154 to 163	11 1-10,12-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/000070

Claims 1 to 4, 6, 8 and 10 to 21

In the inventions according to these claims, "a compound recognized by a proton-driven transporter" is cited as a component contained in a preparation and, as the proton-driven transporter, "a peptide transporter", "a monocarboxylic acid transporter" and "an amino acid transporter transporting D-cycloserine" are presented. These expressions are employed to functionally describe respective compounds.

However, it cannot be considered that specific compounds agreeing these statements are self-evident for a person skilled in the art. Although the statement in the description is taken into consideration, no specific definition is made therefor but merely particular compounds are cited as examples, which makes the contents unclear.

Therefore, the meanings of the compounds expressed by "a proton-driven transporter" and so on in claims 1, 4, 6, 8 and 10 to 21 are not specifically and briefly described. Moreover, these compounds are neither sufficiently supported by the description nor disclosed in a sufficiently clear and complete manner therein. Thus, they violate the provisions in PCT Articles 5 and 6.

In preparing the present international search report, therefore, search was made on prior art in a reasonable scope based on the description of specific compounds given in claims 5, 7 and 9.

Claim 13

Specific pH-sensitive polymers are cited in this claim and, among them, those having a registered trade mark "EUDRAGIT" attached thereto are cited in trade names. However, specification by a trade name does not always mean that the chemical structures and composition ratios of the polymers are constant and, therefore, the meanings of the polymers cannot be specified thereby.

In preparing the present international search report, therefore, search was made exclusively on prior art in a reasonable scope by reference to the statement in the description.

Claim 19

Although a method of adding a pH-sensitive polymer is described in this claim, it is not specified to what the pH-sensitive polymer is added. Thus, the meaning is unclear.

In preparing the present international search report, therefore, search was made on prior art based on the assumption that the preparation to which the polymer is added is the preparation according to claim 1 and so on by reference to the statement in other claims and the description.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁷ A61K45/08, 38/02, 47/32; A61P31/04, 31/12, 35/00, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁷ A61K45/00-45/08, 38/00-38/42, 47/00-47/32, A61P1/00-43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2004年
日本国実用新案登録公報	1996-2004年
日本国登録実用新案公報	1994-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN), BIOTECHABS (STN), CAPLUS (STN), WPI (DIALOG),
JSTPLUS (JOIS), JMEDPLUS (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	玉井 郁巳, トランスポーターを介した薬物吸収の分子機構論的研究, 薬学雑誌, 1997, 117(7), pp. 415-434	1-7, 10-21 8, 9
Y A	辻 彰, 生体膜輸送の分子機構に関する生物薬剤学的研究, 第122年会日本薬学会講演要旨集-1, 日本薬学会, 2002, p. 40	1-7, 10-21 8, 9
Y A	玉井 郁巳, 小腸上皮トランスポーター群の分子機構論的解析と薬物の経口デリバリーへの応用, 薬学研究の進歩, 2000, 16, pp. 77-87	1-7, 10-21 8, 9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

18.02.2004

国際調査報告の発送日

09.3.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
荒木 英 則

4C 9736

電話番号 03-3581-1101 内線 3450

C (続き) 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	玉井 郁巳, 生体特異的機構を介した薬物の小腸上皮細胞内取り込み・分泌の分子メカニズム, 薬物動態, 1999, 14(2), pp.158-170	1-7, 10-21 8, 9
Y A	KITAGAWA, S., <i>et al.</i> pH-Dependent Inhibitory Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors on Cefroxadine Uptake by Rabbit Intestinal Brush-Border Membrane Vesicles and Their Relationship with Hydrophobicity and the Ratio of Zwitterionic Species. Biol. Pharm. Bull., 1999, 22(7), pp.721-724	1-5, 10-21 6-9
Y A	GUO, A., <i>et al.</i> Interactions of a Nonpeptidic Drug, Valacyclovir, with the Human Intestinal Peptide Transporter (hPEPT1) Expressed in a Mammalian Cell Line: J. Pharmacol. Exp. Ther., 1999, 289(1), pp.448-454	1-5, 10-21 6-9
Y A	TSUJI, A., <i>et al.</i> pH-Dependent Intestinal Transport of Monocarboxylic Acids: Carrier-Mediated and H ⁺ -Cotransport Mechanism Versus pH-Partition Hypothesis. J. Pharm. Sci., 1990, 79(12), pp.1123-1124	1-3, 6, 7, 10-21 4, 5, 8, 9
Y A	RANALDI, G., <i>et al.</i> D-Cycloserine Uses an Active Transport Mechanism in the Human Intestinal Cell Line Caco 2. Antimicrob. Agents Chemother., 1994, 38(6), pp.1239-1245	1-3, 8-21 4-7
Y A	THWAITES, D.T., <i>et al.</i> D-Cycloserine transport in human epithelial(Caco-2) cells: mediation by a H ⁺ -coupled amino acid transporter. Br. J. Pharmacol., 1995, 115, pp.761-766	1-3, 8-21 4-7
Y A	OH, D.-M., <i>et al.</i> Improved Intestinal Transport of PD 158473, an N-Methyl-D-Aspartate(NMDA) Antagonist, by Improvement of Multiple Transporters. J. Pharm. Sci., 2002, 91(12), pp.2579-2587	1-3, 8-21 4-7
A	崔 吉道, 辻 彰, トランスポーターを介した薬物相互作用, 医学のあゆみ, 2001, 197(1), pp.23-31	1-21
A	WO 03/000285 A1(科学技術振興事業団) 2003.01.03, 全文参照, & JP 2003-002843 A	1-21
Y	WO 91/16042 A1(EURAND INTERNATIONAL SPA) 1991.10.31, 全文参照, & JP 4-224517 A & EP 524989 A1 & CA 2035155 A & CA 2040471 A & AU 9176798 A & PT 97370 A & ZA 9102792 A & US 5900252 A	1-21

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP 612520 A2 (PFIZER INC.) 1994. 08. 31, 全文参照, & JP 7-000799 A & JP 7-002645 A & NO 9400642 A & AU 99456400 A & CA 2116288 A & FI 9400866 A & US 5358502 A & ZA 9401262 A & NZ 250967 A & US 5609590 A & CN 1098286 A	1-21
Y	WO 00/32172 A1 (TAKADA, Kanji) 2000. 06. 08, 請求の範囲, 実施例, & JP 2002-531394 A & AU 200014101 A & BR 9916871 A & EP 1135112 A1 & KR 2001086057 A & CN 1333680 A	1-21
Y	岡畑 恵雄, 刺激応答性カプセル膜を用いた徐放性の制御, DDS 技術の進歩, 日本工業技術振興協会ほか, 1990, ISBN4-8407-1834- 2, pp. 137-160	1-21
Y A	BARR, W.H., <i>et al.</i> Intestinal Drug Absorption and Metabolism I: Comparison of Methods and Models to Study Physiological Factors of <i>In Vitro</i> and <i>In Vivo</i> Intestinal Absorption. J. Pharm. Sci., 1970, 59(2), pp. 154-163	11 1-10, 12-21

請求の範囲1-4, 6, 8, 10-21について

これらの請求の範囲に係る発明では、製剤中に含有される成分として、「プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物」が記載されるとともに、プロトン駆動型トランスポーターとして、「ペプチドトランスポーター」、「モノカルボン酸トランスポーター」、及び、「D-サイクロセリンを輸送するアミノ酸トランスポーター」が記載されており、これらはいずれも化合物を機能的に表現するべく用いられているものである。

しかしながら、かかる記載に合致する具体的な化合物は当業者にとり自明であるとはいえず、また、明細書の記載をみても、具体的な化合物についての例示があるのみで、特段の定義があるわけでもないから、その内容が不明確なものとなっている。

してみれば、請求の範囲1, 4, 6, 8, 10-21において「プロトン駆動型トランスポーターに認識される化合物」等により表現される化合物が具体的にいかなるものであるかについて明確かつ簡潔に記載されたものとはいえず、また、明細書においてもこれらに関する十分な裏付けを欠くものであって明確かつ十分に開示されたものとはいえないから、PCT 5条及び6条の規定に違反するものである。

したがって、本国際調査報告の作成に際しては、請求の範囲5, 7, 9に記載された具体的な化合物に関する記載に基づき、合理的な範囲内の先行技術のみをその調査対象とした。

請求の範囲13について

同項には具体的pH感受性高分子が列挙され、そのうち登録商標である「オイドラギット」なる語が付されたものは商品名により列挙されたものである。しかしながら、商品名による特定によっては、当該高分子の化学構造や組成比等が常時一定のものであるとは限らないため、その内容を特定することができないものとなっている。

したがって、本国際調査報告の作成に際しては、明細書の記載を参考に、合理的な範囲内の先行技術のみをその調査対象とした。

請求の範囲19について

同項ではpH感受性高分子を配合する方法について記載されているが、配合される対象が特定されていないため、その内容が明らかではない。

したがって、本国際調査報告の作成に際しては、他の請求の範囲の記載及び明細書の記載を参考に、配合される対象が請求の範囲1等に記載の製剤であるとして先行技術調査を行った。